

高 CO₂ 浓度对两种色型豌豆蚜体内营养物质含量及消化酶活性的影响

李润红^{1,2,3}, 刘长仲^{2,*}

(1. 甘肃农业大学资源环境学院, 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学植物保护学院, 兰州 730070;

3. 甘肃中医药大学定西校区生化系, 甘肃定西 743000)

摘要:【目的】明确红、绿两种色型豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Harris) 对大气 CO₂ 浓度升高响应的生理机制。【方法】通过 CO₂ 人工气候箱, 设置中等浓度 (550 ± 27 μL/L) 和高浓度 (750 ± 37 μL/L) CO₂ 浓度, 并以当前浓度 (375 ± 18 μL/L) 为对照。在设置以上 CO₂ 浓度的人工气候箱种植蚕豆苗并接入 6 h 以内的豌豆蚜初产若蚜, 记录各虫态的蜕皮和存活情况直至羽化。测定连续 3 代饲养在蚕豆上的红、绿两种色型豌豆蚜体内营养物质含量和消化酶活力, 同时测定蚕豆叶片组织营养物质含量。【结果】大气 CO₂ 浓度升高可显著增加蚕豆叶片内可溶性蛋白、可溶性糖、游离氨基酸和淀粉含量。中等 CO₂ 浓度 (550 ± 27 μL/L) 条件下, F₀ 代两种色型豌豆蚜体内营养物质含量较对照均无显著变化, F₂ 代蛋白质、总氨基酸、可溶性糖和糖原含量较对照均显著增加, 总脂肪和游离脂肪酸含量较对照显著降低, 且 F₂ 代绿色型豌豆蚜体内可溶性糖含量显著高于红色型的。高 CO₂ 浓度 (750 ± 37 μL/L) 条件下, 3 世代两种色型豌豆蚜体内蛋白质、总氨基酸、可溶性糖和糖原含量均显著高于对照, 总脂肪和游离脂肪酸含量显著低于对照。其中, F₁ 和 F₂ 代绿色型豌豆蚜体内蛋白质、总氨基酸、可溶性糖和糖原含量显著高于红色型的。CO₂ 浓度 (550 ± 27 和 750 ± 37 μL/L) 升高条件下, F₀ 代两种色型豌豆蚜体内消化酶活力较对照无显著变化, F₂ 代胃蛋白酶和胰蛋白酶活力较对照显著降低, 脂肪酶和淀粉酶活力显著升高, 3 世代两色型间消化酶活力均无显著差异。【结论】高 CO₂ 浓度下, 蚕豆叶片组织营养物质含量发生改变从而引起以之为食的豌豆蚜体内营养物质含量与消化酶活力的变化, 且绿色型豌豆蚜体内蛋白质、总氨基酸、可溶性糖和糖原含量的变化大于红色型豌豆蚜的, 这对未来大气 CO₂ 浓度升高的环境下豆科植物主要害虫豌豆蚜的防治具有参考价值。

关键词: 豌豆蚜; CO₂ 浓度升高; 蚕豆; 营养物质; 消化酶

中图分类号: Q968.1 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2016)12-1298-10

Effects of elevated CO₂ concentration on nutrient contents and digestive enzyme activities in two color morphs of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae)

LI Run-Hong^{1,2,3}, LIU Chang-Zhong^{2,*} (1. College of Resources and Environmental Sciences, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Department of Biochemistry, Gansu University of Chinese Medicine, Dingxi, Gansu 743000, China)

Abstract: 【Aim】To clarify the physiological mechanisms of the red and green color morphs of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris), in response to elevated CO₂ concentration. 【Methods】Two elevated levels of CO₂ concentration (moderate: 550 ± 27 μL/L; doubling: 750 ± 37 μL/L) were manipulated in incubators with ambient CO₂ (375 ± 18 μL/L) as the control. *Vicia faba* seedlings were planted in the

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31660522)

作者简介: 李润红, 女, 1982 年生, 甘肃会宁人, 博士研究生, 讲师, 研究方向为昆虫生态, E-mail: 15686075@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: liuchzh@gsau.edu.cn

收稿日期 Received: 2016-09-12; 接受日期 Accepted: 2016-11-14

above incubators, nymphs of the pea aphid within 6 h were introduced later, and molting and the survival in various developmental stages were recorded until the adult. Nutrient contents and digestive enzyme activities of two color (red and green) morphs of the pea aphid in three successive generations and nutrient contents in *V. faba* leaves were assayed. 【Results】Elevated CO₂ concentration significantly enhanced the contents of soluble protein, soluble carbohydrates, free amino acids and starch in *V. faba* leaves. Under the moderate CO₂ concentration ($550 \pm 27 \mu\text{L/L}$) condition, the nutrient contents in F₀ generation of the two color morphs of the pea aphid had no significant difference as compared with the control, while the contents of protein, total amino acids, soluble carbohydrates and glycogen in F₂ generation all increased and the contents of total lipid and free fatty acids decreased significantly, and moreover the content of soluble carbohydrates in F₂ generation of green pea aphid was significantly higher than that in red pea aphid. Under the doubling CO₂ concentration ($750 \pm 37 \mu\text{L/L}$) condition, the contents of protein, total amino acids, soluble carbohydrates and glycogen in three successive generations of the two color morphs all increased significantly and the contents of total lipid and free fatty acids decreased significantly as compared with the control, and moreover the contents of protein, total amino acids, and glycogen in the F₁ and F₂ generations of green pea aphid were significantly higher than those in red pea aphid. Under the elevated CO₂ concentration (550 ± 27 and $750 \pm 37 \mu\text{L/L}$) conditions, the digestive enzyme activities in F₀ generation of two color morphs of the pea aphid had no significant difference as compared with the control, while the pepsin and trypsin activities in F₂ generation decreased significantly and those of lipase and amylase increased significantly, and moreover the digestive enzyme activities had no significant difference between the two color morphs. 【Conclusion】Under the elevated CO₂ concentration, the change in nutrient composition in broad bean leaf causes the change in nutrient composition and digestive enzyme activities in pea aphids feeding the disposed *V. faba* leaves. Additionally, the changes in contents of protein, total amino acids, soluble carbohydrates and glycogen in the green morph of the pea aphid are more significant than those in the red morph. These results provide some references for controlling the pea aphid, the main pest in leguminous plants, under the elevated atmospheric CO₂ concentration condition in the future.

Key words: *Acyrtosiphon pisum*; elevated CO₂ concentration; *Vicia faba*; nutrient; digestive enzyme

工业革命以来,煤、石油、天然气等化石能源的广泛应用,以及人类砍伐森林等活动对自然环境和生态系统造成了严重的破坏,导致全球大气中的 CO₂ 浓度不断上升(方精云和庄亚辉, 2000)。据资料报道,自 1995 年以来大气 CO₂ 浓度每年以 $1.9 \mu\text{L/L}$ 的速度递增,至 2005 年达到 $379 \mu\text{L/L}$ 。预计在本世纪末将达到 $540 \sim 970 \mu\text{L/L}$ (Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2007)。大气 CO₂ 浓度的升高不仅加速了全球变暖的进程,还改变了动植物的生长发育过程,并对整个生态系统产生深远影响(许振柱等, 2005)。

大气 CO₂ 浓度升高将会增强植物的光合作用,加速植物的生长与发育,提高作物的产量,植物组织内碳水化合物含量提高, N 含量降低, C/N 升高,有些学者将其解释为 N 的稀释作用(Bassirirad *et al.*, 1997)。也有研究认为,大气 CO₂ 浓度升高对植物组织中 C/N 含量无显著影响,如 C₃ 植物中的豆科植物红车轴草 *Trifolium pratense* 和草木樨 *Melilotus alba* 在高 CO₂ 浓度条件下生长,它们的 C、N 含量以

及 C/N 并没有受到影响(Karowe, 2007)。Rogers 等(2006)认为是由于豆科植物含有的根瘤菌能截取氮素,以适应植物在高 CO₂ 浓度环境下植物生长对 N 需求的增加(Bottomley *et al.*, 1993)。所以,相对其他植物而言,在高 CO₂ 浓度下,豆科植物更具有竞争优势(Ainsworth and Long, 2005),所以大多数豆科植物叶片 N 含量下降的幅度都比非豆科的 C₃ 植物叶片少(Cotrufo *et al.*, 1998)。

研究发现,大气 CO₂ 浓度升高($550 \sim 750 \mu\text{L/L}$)对昆虫的直接影响甚微(Yin *et al.*, 2010),它主要通过植物的级联效应间接作用于昆虫(Wu *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2011),CO₂ 是植物生存的基础,其浓度的升高不仅会影响植物的生长发育,还会引起植物总糖、可溶性蛋白和游离氨基酸等营养成分含量的变化(Peñuelas *et al.*, 2002),进而影响植食性昆虫的生长发育和繁殖,导致植食性昆虫与寄主植物的相互关系发生变化(Taub *et al.*, 2008)。

目前关于植物-植食性昆虫的关系的报道较多。Wu 等(2007)报道,大气 CO₂ 浓度水平对棉花叶片

氮含量有着显著影响,在高 CO_2 浓度下植株叶片氮含量明显低于对照 CO_2 浓度处理,且高 CO_2 浓度和植物低氮含量可有效影响植食性昆虫的酶活力。曾芸芸等(2013)研究表明,高 CO_2 浓度处理下,稻茎营养成分会降低,褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 若虫取食低营养的水稻后,其体内的保护酶及解毒酶等生理代谢酶活性会出现一定变化。

豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Harris) 隶属于半翅目蚜科,是田间主要刺吸式害虫之一。其寄主范围十分广泛,对大多数豆科作物包括豌豆 *Pisum sativum*、苜蓿 *Medicago sativa*、蚕豆 *Vicia faba* 等危害极大(王小强等, 2013)。近年来,我国豌豆蚜种群发生了很大变化,如豌豆蚜正在从苜蓿田的次要害虫上升为主要害虫。豌豆蚜有红、绿两种色型,田间种群数量以绿色型为优势种群(杜军利等, 2012)。杜军利等(2015)认为,豌豆蚜对温度的响应与其体色型相关联,红色型豌豆蚜在较低温度条件下适应性较强,而绿色型豌豆蚜在较高温度条件下适应性较强,这种适应性的不同与豌豆蚜体内共生菌有关。马亚玲和刘长仲(2016)在研究光周期对两种色型豌豆蚜种群参数的影响时发现,红色型豌豆蚜更适宜光周期 10L: 14D,而绿色型豌豆蚜更适宜光周期 16L: 8D。关于豌豆蚜的生物学、生态学、及其对寄主植物的危害,已有大量研究(韩秀楠等, 2012; 杜军利, 2013; 吕宁和刘长仲, 2014),而有关大气 CO_2 浓度升高对豌豆蚜及其寄主植物相互关系的影响未见报道,本研究选取两种色型豌豆蚜及其寄主植物蚕豆 *Vicia faba*,通过人工气候箱内模拟实验研究未来大气 CO_2 浓度升高对两种色型豌豆蚜体内营养物质含量和酶活力的影响,以探讨两种色型豌豆蚜对 CO_2 浓度升高的生理响应。

1 材料与方法

1.1 蚕豆

将蚕豆催芽,而后种入直径为 9 cm 营养钵中,分别置于 CO_2 浓度为 375, 550 和 750 $\mu\text{L/L}$ 的人工气候箱中,实验过程中未使用任何化学肥料或农药选取,直至蚕豆植株长至 10 cm 左右后,选取同日龄相同叶位的蚕豆叶片储存于 -20°C 冰箱内进行叶片化学物质的测定。

1.2 两种色型豌豆蚜

红、绿色型豌豆蚜采自甘肃农业大学试验基地。豌豆蚜饲养在 CO_2 人工气候箱内,温度设置为 $23 \pm$

1°C ,湿度保持在 $60\% \pm 10\%$,光周期 16L: 8D, CO_2 浓度设为对照 375 $\mu\text{L/L}$ 、中等浓度 550 $\mu\text{L/L}$ 和高浓度 750 $\mu\text{L/L}$ 。将 6 h 以内的初产若蚜作为供试虫源接入上述处理的蚕豆叶片上,每株蚕豆接入 10 头若虫,红、绿色型供试若虫各 120 头,每日 8:00 和 20:00 各观察 1 次,记录各虫态的蜕皮和存活情况,期间将豌豆蚜若虫每 1 ~ 2 d 重新接种于新鲜的上述处理的蚕豆叶片上,直至羽化,100 头用于体内物质的测定,20 头待其产蚜;重复上述操作 3 个世代。

1.3 可溶性蛋白含量的测定

采用考马斯亮蓝法:称取蚕豆叶片 0.05 g,剪碎后,加入 50 μL 蒸馏水在冰浴中研磨后,分别加 450 μL 和 500 μL 蒸馏水分两次冲洗,合并上清液,5 000 r/min 下离心 10 min,取上清液 100 μL 加 100 μL 蒸馏水及 1 000 μL 考马斯亮蓝 G250 蛋白质试剂混匀,放置 2 min 显色,取混合液 300 μL 转移到 96 孔的酶标板中,以标准曲线 1 号试管作参比,在 595 nm 波长下测定吸光度值,用牛血清蛋白绘制标准曲线。各处理含 3 次生物重复,2 次技术重复;下同。

1.4 可溶性糖含量的测定

采用蒽酮比色法:称取蚕豆叶片 0.05 g,剪碎后,加 50 μL 80% 的乙醇冰浴研磨,用 950 μL 80% 的乙醇冲洗两次,5 000 r/min 下离心 10 min,取上清液 16 μL ,再加入 184 μL 80% 的乙醇,加蒽酮试剂 1 000 μL 显色,在沸水浴中煮沸 10 min,冷却后取混合液 300 μL 转移到 96 孔的酶标板中,以标准曲线 1 号试管作参比,在 620 nm 波长下测定吸光度值,用标准葡萄糖溶液绘制标准曲线。

1.5 淀粉含量的测定

采用蒽酮比色法:移去上述测定可溶性糖试管上清液,在沉淀里加入 1 000 μL 蒸馏水,放入超声清洗器震荡 20 min,再沸水浴 15 min,冷却加入 100 μL 高氯酸,反应 15 min,取上清液 50 μL ,加蒸馏水 150 μL ,再加入 1 000 μL 蒽酮,沸水浴 10 min,冷却后取混合液 300 μL 转移到 96 孔的酶标板中,以标准曲线 1 号试管作参比,在 620 nm 波长下测定吸光度值,用纯淀粉溶液绘制标准曲线。

1.6 游离氨基酸含量的测定

采用水合茚三酮法:称取蚕豆叶片 0.05 g,剪碎后,加入 50 μL 10% 的乙酸冰浴研磨,用 950 μL 10% 乙酸缓冲液冲洗两次,5 000 r/min 下离心 10 min,取上清液 21.8 μL ,加乙酸-乙酸钠缓冲液 414.2 μL ,再加茚三酮 656 μL ,再加 0.1% 抗坏血酸 108 μL ,摇匀后置沸水浴加热 15 min,取出间歇冷却

15 min,摇匀,取混合液 300 μL 转移到 96 孔的酶标板中,以标准曲线 1 号试管作参比,在 580 nm 波长下测定吸光度值,用亮氨酸绘制标准曲线。

1.7 豌豆蚜体内营养物质含量和消化酶活性的测定

豌豆蚜体内蛋白质、可溶性糖、糖原、总脂肪含量的测定参考吕宁(2015)的方法,制作标准曲线,计算出豌豆蚜体内各营养物质的含量;总氨基酸、游离脂肪酸含量以及消化酶活性的测定,严格按照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书操作。

1.8 数据处理

实验数据用 Excel 2007 进行数据处理,SPSS 17.0 程序进行统计分析和双因子方差分析,并用 Duncan 氏新复极差法和独立样本 *T* 检验分析数据

的差异显著性,概率水平 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 蚕豆叶片营养物质含量分析

由图 1 可知,随着 CO₂ 浓度升高,蚕豆叶片组织内可溶性蛋白、可溶性糖、淀粉和游离氨基酸含量均增加,其中,可溶性蛋白含量在对照、中等浓度(550 ± 27 μL/L)和高浓度(750 ± 37 μL/L)之间均存在显著差异($P<0.05$)。可溶性糖和游离氨基酸含量在中等浓度和高浓度之间无显著差异($P>0.05$),但和对照相比,均显著增加($P<0.05$)。淀粉含量只有高浓度和对照之间存在显著差异($P<0.05$)。

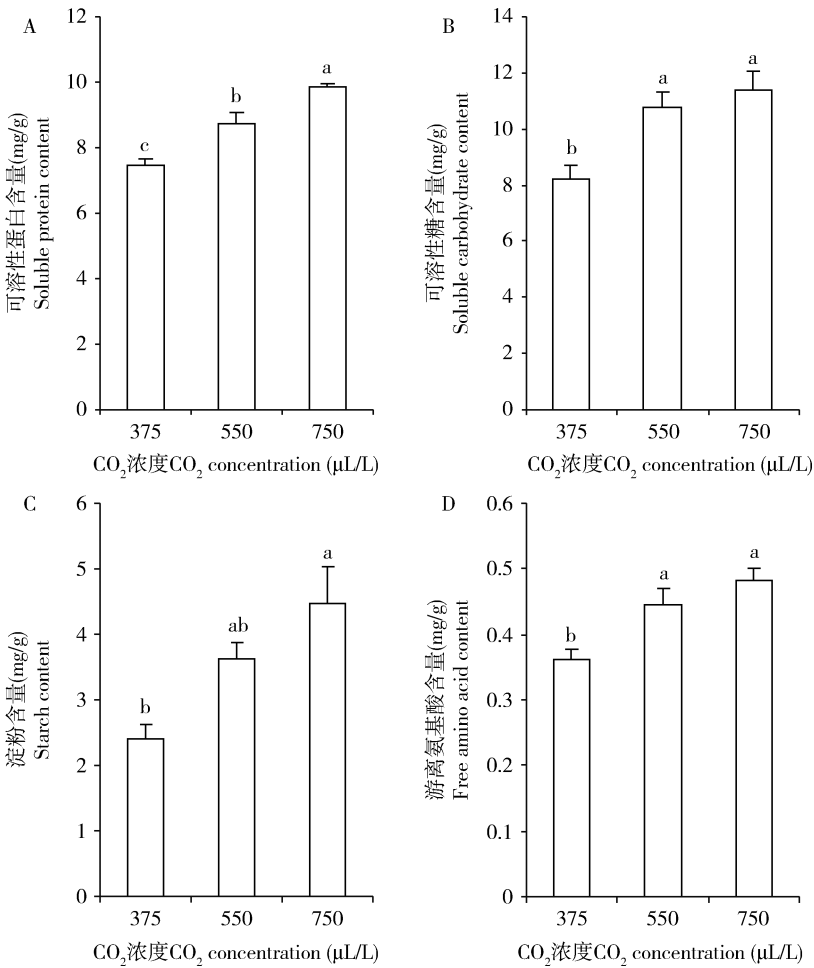


图 1 CO₂ 浓度升高对蚕豆叶片中营养物质含量的影响

Fig. 1 Effects of elevated CO₂ concentration on the nutrient contents in leaves of *Vicia faba*

A: 可溶性蛋白含量 Soluble protein content; B: 可溶性糖含量 Soluble carbohydrate; C: 淀粉含量 Starch content; D: 游离氨基酸含量 Free amino acid content. 不同小写字母表示不同 CO₂ 浓度处理之间 Duncan 氏多重比较结果差异显著 ($P<0.05$)。Different small letters show significant difference at the 0.05 level among treatments of different CO₂ concentrations by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

2.2 两种色型豌豆蚜体内营养物质含量分析

由图 2(A ~ H) 可知,随着 CO₂ 浓度升高,连续 3 代两种色型豌豆蚜体内蛋白质含量、总氨基酸含

量、可溶性糖含量和糖原含量均呈升高的趋势,图 2(I ~ L) 可知,总脂肪和游离脂肪酸含量下降。其中 F₀ 代红色型豌豆蚜在中等浓度 CO₂ 条件下,各营养

物质含量与对照比较均无显著变化 ($P > 0.05$), 而绿色型的蛋白质含量显著升高 ($P < 0.05$), 在高浓度 CO_2 条件下, 红、绿两种色型豌豆蚜体内蛋白质

和总氨基酸含量均显著高于对照 ($P < 0.05$); 而可溶性糖含量、糖原、总脂肪和游离脂肪酸含量与对照比较均无显著变化 ($P > 0.05$)。

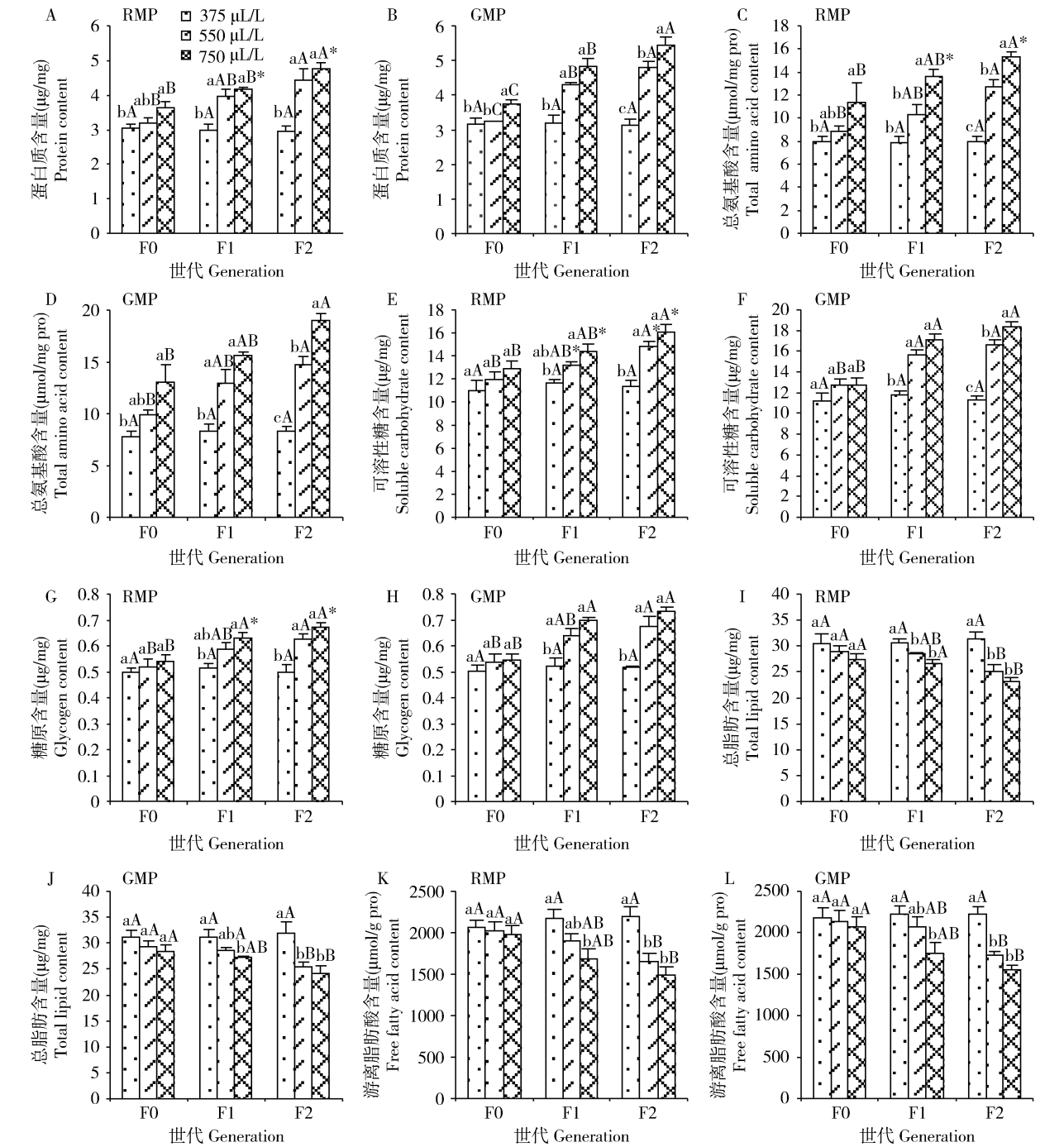


图2 CO_2 浓度升高对两种色型豌豆蚜体内营养物质含量的影响

Fig. 2 Effects of elevated CO_2 concentration on the nutrient contents in two color morphs of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. A, B: 蛋白质含量 Protein content; C, D: 总氨基酸含量 Total amino acid content; E, F: 可溶性糖含量 Soluble carbohydrate content; G, H: 糖原含量 Glycogen content; I, J: 总脂肪含量 Total lipid; K, L: 游离脂肪酸含量 Free fatty acid content. RMP: 红色型豌豆蚜 Red color morph of the pea aphid; GMP: 绿色型豌豆蚜 Green color morph of the pea aphid. 不同小写字母表示同一世代不同浓度 CO_2 处理之间 Duncan 氏多重比较结果差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示同一 CO_2 浓度不同世代之间 Duncan 氏多重比较结果差异显著 ($P < 0.05$); 星号表示红绿两种色型间在同一 CO_2 浓度下独立样本 T 检验结果差异显著 ($P < 0.05$). Different lowercase letters represent significant differences among different CO_2 concentrations by Duncan's multiple range test for the same generation ($P < 0.05$); while different uppercase letters represent significant differences among different generations by Duncan's multiple range test under the same CO_2 concentration ($P < 0.05$). The asterisk represents significant differences between two color morphs by independent sample T test under the same CO_2 concentration ($P < 0.05$). 图3 同 The same for Fig. 3.

F₁ 代红色型豌豆蚜在中等浓度 CO₂ 条件下,蛋白质含量显著高于对照,总脂肪含量显著低于对照 ($P < 0.05$),其他营养物质含量与对照比较无显著变化 ($P > 0.05$);而绿色型豌豆蚜体内蛋白质、总氨基酸、可溶性糖和糖原含量均显著高于对照 ($P < 0.05$),且绿色型豌豆蚜可溶性糖含量显著高于红色型豌豆蚜 ($P < 0.05$),而总脂肪和游离脂肪酸含量与对照比较无显著变化 ($P > 0.05$)。在高浓度 CO₂ 条件下,两种色型豌豆蚜体内各营养物质含量与对照比较均存在显著变化 ($P < 0.05$)。且绿色型豌豆蚜蛋白质、总氨基酸、可溶性糖和糖原含量均显著高于红色型豌豆蚜的 ($P < 0.05$)。

F₂ 代两种色型豌豆蚜在中等浓度和高浓度 CO₂ 条件下,体内各营养物质含量与对照比较均有显著变化 ($P < 0.05$),其中,红色型豌豆蚜的总氨基酸,绿色型豌豆蚜的蛋白质、总氨基酸和可溶性糖含量在中等浓度和高浓度 CO₂ 处理之间也存在显著变化 ($P < 0.05$)。其两种色型间独立样本 *T* 检验结

果与 F₁ 代相似。

当 CO₂ 浓度为 550 μL/L 时,F₁ 代红色型豌豆蚜体内各营养物质含量与 F₀ 代相比均无显著变化 ($P > 0.05$),绿色型豌豆蚜蛋白质和可溶性糖含量显著高于 F₀ ($P < 0.05$)。F₂ 代两种色型豌豆蚜体内各营养物质含量与 F₀ 代比较均有显著变化 ($P < 0.05$)。当 CO₂ 浓度为 750 μL/L 时,各世代间营养物质含量的变化与 CO₂ 浓度为 550 μL/L 时的相似。

由表 1 可知,CO₂ 浓度因子对两种色型豌豆蚜体内蛋白质、总氨基酸、可溶性糖、糖原、总脂肪以及游离氨基酸含量均有极显著影响;世代因子除了对绿色型豌豆蚜总脂肪含量无显著影响外,对两种色型豌豆蚜其他体内营养物质含量均有显著影响 ($P < 0.05$);CO₂ 浓度和世代的交互作用对两种色型豌豆蚜体内蛋白质、绿色型豌豆蚜体内可溶性糖、糖原含量有显著影响 ($P < 0.05$),对其他均无显著影响 ($P > 0.05$)。

表 1 CO₂ 浓度、世代及其交互作用对两种色型豌豆蚜体内营养物质含量影响的方差分析

Table 1 Two-factor ANCOVA results for effects of CO ₂ concentration, generation and their interaction on nutrient contents of two color morphs of the pea aphid, <i>Acyrtosiphon pisum</i>							
营养物质 Nutrients	色型 Morph	世代 Generation		CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration		CO ₂ 浓度 × 世代 CO ₂ concentration × Generation	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
蛋白质 Protein	RMP	12.71	<0.001	32.54	<0.001	3.93	0.018
	GMP	41.95	<0.001	82.38	<0.001	10.74	<0.001
总氨基酸 Total amino acids	RMP	8.99	0.002	40.66	<0.001	2.35	0.093
	GMP	13.39	<0.001	55.98	<0.001	2.67	0.065
可溶性糖 Soluble carbohydrates	RMP	10.10	0.001	22.33	<0.001	1.87	0.16
	GMP	29.13	<0.001	57.79	<0.001	6.94	0.001
糖原 Glycogen	RMP	9.66	0.001	17.73	<0.001	2.26	0.103
	GMP	18.21	<0.001	29.16	<0.001	3.83	0.02
总脂肪 Total lipid	RMP	3.88	0.04	15.31	<0.001	1.89	0.156
	GMP	2.90	0.08	11.86	0.001	1.32	0.3
游离脂肪酸 Free fatty acids	RMP	4.15	0.03	13.13	<0.001	2.59	0.07
	GMP	6.18	0.009	12.20	<0.001	2.42	0.86

RMP: 红色型豌豆蚜 Red color morph of the pea aphid; GMP: 绿色型豌豆蚜 Green color morph of the pea aphid. 表 2 同 The same for Table 2.

2.3 两种色型豌豆蚜消化酶活力分析

由图 3(A ~ D)可知,随着 CO₂ 浓度升高,连续 3 代两种色型豌豆蚜体内胃蛋白酶和胰蛋白酶活力显著下降,图 3(E ~ H)可知,淀粉酶和脂肪酶活力显著升高,且两种色型豌豆蚜间独立样本 *T* 检验均无显著差异 ($P > 0.05$)。其中 F₀ 代红、绿两种色型豌豆蚜在中等浓度和高浓度 CO₂ 条件下,胃蛋白酶、胰蛋白酶和淀粉酶活力与对照比较均无显著变化 ($P > 0.05$),而脂肪酶活力在高浓度 CO₂ 条件下显著高于对照 ($P < 0.05$)。

F₁ 代两种色型豌豆蚜在中等浓度 CO₂ 条件下,胰蛋白酶活力均显著低于对照 ($P < 0.05$),脂肪酶活力均显著高于对照 ($P < 0.05$),而胃蛋白酶和淀粉酶活力与对照比较均无显著变化 ($P > 0.05$)。在高浓度 CO₂ 条件下,两种色型豌豆蚜消化酶活力与对照比较均存在显著差异 ($P < 0.05$)。其中,红色型胰蛋白酶和脂肪酶活力在中等浓度和高浓度 CO₂ 之间也存在显著变化 ($P < 0.05$)。

F₂ 代两种色型豌豆蚜在中等浓度和高浓度 CO₂ 条件下,胃蛋白酶和胰蛋白酶活力均显著低于

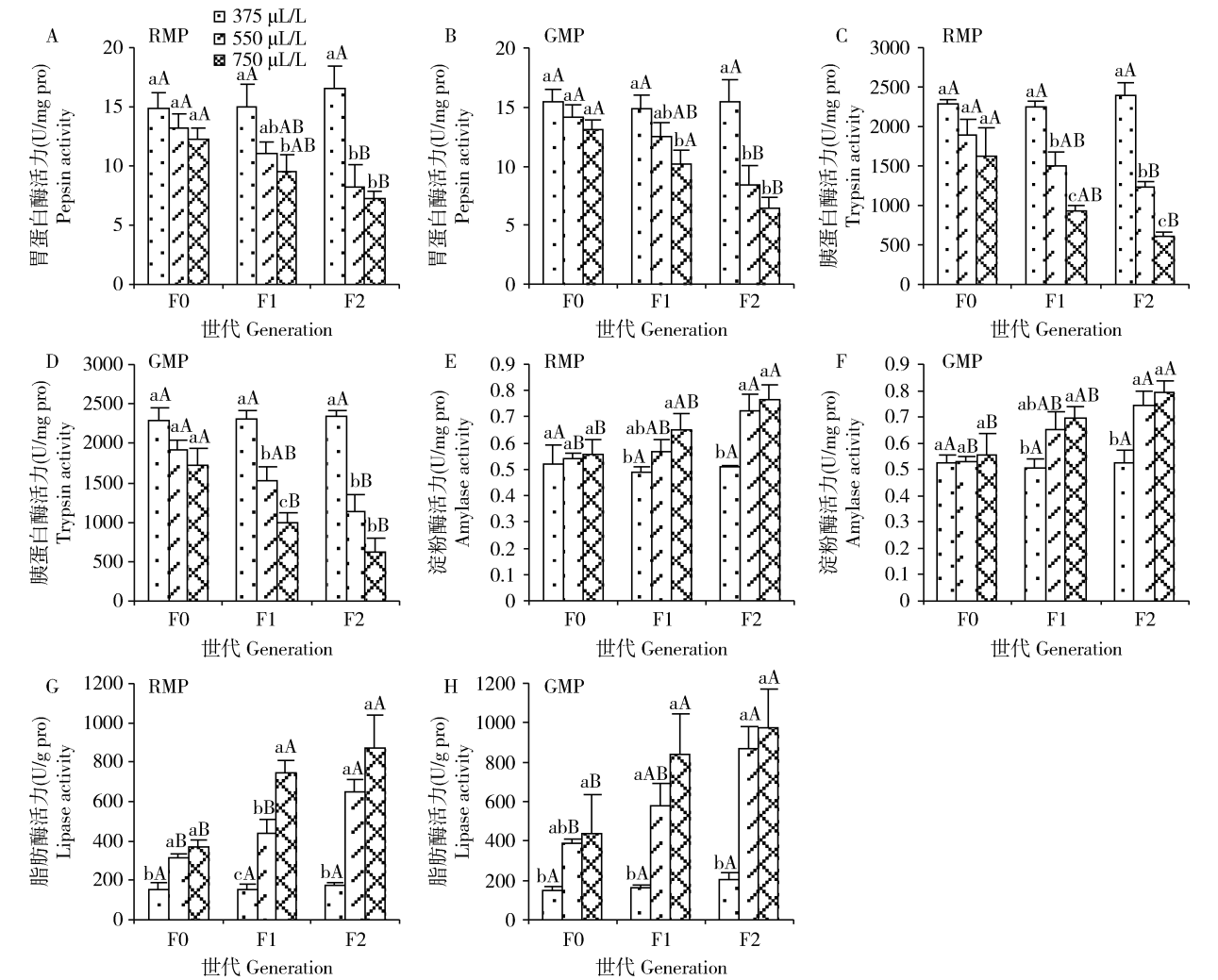


图3 CO₂浓度升高对两种色型豌豆蚜体内消化酶活力的影响

Fig. 3 Effects of elevated CO₂ concentration on digestive enzyme activities in two color morphs of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* A, B: 胃蛋白酶活力 Pepsin activity; C, D: 胰蛋白酶活力 Trypsin activity; E, F: 淀粉酶活力 Amylase activity; G, H: 脂肪酶活力 Lipase activity.

对照($P < 0.05$),脂肪酶和淀粉酶含量均显著高于对照($P < 0.05$),其中红色型豌豆蚜胰蛋白酶活力在中等浓度和高浓度 CO₂ 处理之间也存在显著变化($P < 0.05$)。

当 CO₂ 浓度为 550 μL/L 时, F₁ 代两种色型豌豆蚜体内各消化酶活力与 F₀ 代相比均无显著变化

表2 CO ₂ 浓度、世代及其交互作用对两种色型豌豆蚜消化酶活力影响的方差分析							
Table 2 Two-factor ANCOVA results for effects of CO ₂ concentration, generation and their interaction on digestive enzyme activities in two color morphs of the pea aphid, <i>Acyrthosiphon pisum</i>							
消化酶 Digestive enzymes	色型 Morph	世代 Generation		CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration		CO ₂ 浓度 × 世代 CO ₂ concentration × Generation	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
胃蛋白酶 Pepsin	RMP	2.90	0.080	14.11	0.000	1.86	0.16
	GMP	8.46	0.003	14.72	0.000	2.39	0.09
胰蛋白酶 Trypsin	RMP	7.77	0.004	42.97	0.000	2.94	0.05
	GMP	11.31	0.001	44.54	0.000	3.64	0.02
淀粉酶 Amylase	RMP	5.46	0.01	7.45	0.004	1.60	0.22
	GMP	6.75	0.007	8.77	0.002	1.80	0.17
脂肪酶 Lipase	RMP	13.20	0.000	40.52	0.001	3.81	0.02
	GMP	14.37	0.000	40.08	0.001	3.07	0.04

($P > 0.05$), 而 F₂ 代与 F₀ 代相比均存在显著差异 ($P < 0.05$)。当 CO₂ 浓度为 750 $\mu\text{L/L}$ 时, F₁ 代两种色型豌豆蚜体内脂肪酶活力显著高于 F₀ 代的, 绿色型胰蛋白酶活力显著低于 F₀ 代的, F₂ 代与 F₀ 代相比, 两种色型豌豆蚜体内各消化酶活力均存在显著差异 ($P < 0.05$)。

由表 2 可知, CO₂ 浓度因子对两种色型豌豆蚜体内各消化酶活力均有极显著影响 ($P > 0.01$), 世代因子除了对红色型豌豆蚜胃蛋白酶活力无显著影响外 ($P > 0.05$), 对两种色型豌豆蚜体内其他消化酶活力均有极显著影响 ($P < 0.01$), CO₂ 浓度和世代的交互作用对两种色型豌豆蚜体内胰蛋白酶和脂肪酶活力有显著影响 ($P < 0.05$), 对胃蛋白酶和淀粉酶活力无显著影响 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 高 CO₂ 浓度下蚕豆叶片化学物质的变化

高浓度 CO₂ 条件下, 随着光合速率提高, 大多数 C₃ 植物叶片中植物生长所需的非结构性碳水化合物的积累, N 含量相对不足, 导致植物叶片组织淀粉和可溶性糖含量增加, 而蛋白质和氨基酸含量都有不同程度的下降。研究表明, 水稻稻茎蛋白质和总氨基酸含量随高浓度 CO₂ 处理天数的增加, 较对照显著降低, 葡萄糖含量显著升高, 推测高浓度 CO₂ 使得水稻蛋白质和总氨基酸营养价值降低 (曾芸芸, 2013)。也有研究表明, 生长在高浓度 CO₂ 下的蚕豆叶片可溶性糖、可溶性蛋白含量比在空气中生长的高 (任红旭等, 2001)。钱蕾等 (2015) 报道, 高 CO₂ 浓度处理下的四季豆 *Phaseolus vulgaris* 叶片组织淀粉、可溶性蛋白和游离氨基酸的含量均显著高于对照, 分别增加了 33.51%, 41.44% 和 40.56%。本研究结果表明, CO₂ 浓度升高导致蚕豆叶片组织可溶性蛋白质、可溶性糖、游离氨基酸和淀粉含量增加, 可能是由于豆科植物具有共生固氮功能, 使其易于适应高浓度 CO₂ 环境对氮的需求。

3.2 两种色型豌豆蚜体内营养物质含量的变化

可溶性蛋白和氨基酸是昆虫的基本营养成分, 并可相互转化。吴刚等 (2006) 研究表明, 高大气 CO₂ 浓度环境中棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫体内蛋白质和总氨基酸含量分别下降了 14.16% 和 28.40%, 说明在未来高浓度 CO₂ 大气环境中, 高浓度 CO₂ 可导致棉铃虫幼虫体内的营养物质含量显著下降, 从而对棉铃虫的生长发育产生不利的影响。

但曾芸芸 (2013) 研究发现, 褐飞虱取食高浓度 CO₂ 下低营养的水稻后, 其体内蛋白质含量较对照浓度显著降低, 而总氨基酸和葡萄糖含量显著升高。Sun 等 (2009) 分析了在高 CO₂ 浓度环境中取食棉花的棉蚜 *Aphis gossypii* 中 16 种常见氨基酸的供需平衡, 发现棉蚜体内的游离氨基酸含量随着 CO₂ 浓度升高而升高。本研究结果表明, 两种色型豌豆蚜取食高 CO₂ 浓度下蚕豆叶片, 其体内蛋白质和总氨基酸含量均显著高于对照, 推测, 一是蚕豆叶片营养品质的提高导致豌豆蚜体内可溶性蛋白和氨基酸含量的升高。另外, 可能由于高 CO₂ 浓度下蚜虫体内的某些共生菌合成氨基酸的能力增强。

糖提供能量用于昆虫的生长发育和飞行 (王宗舜和欧阳迎春, 1995)。蚜虫是一种刺吸式口器的害虫, 其体内可溶性糖主要来自于取食寄主植物韧皮部的汁液, 研究表明, 植物体内可溶性糖含量还与抗虫性相关, 糖含量越高, 作物抗蚜性越低, 这是因为可溶糖含量与蚜虫产蚜量呈正相关 (李进步等, 2008; 雒珺瑜等, 2011)。糖原是昆虫的能量储存物质, 有动物性淀粉之称, 作为胚胎发育的能量储存物质被利用, 昆虫的繁殖具有相关性 (袁卫宁, 2016)。脂肪是蚜虫远距离飞行的重要能源物质 (李红梅, 2002)。本研究结果表明, 豌豆蚜取食高 CO₂ 浓度下的蚕豆叶片, 其体内可溶性糖和糖原含量增加, 而总脂肪和游离脂肪酸含量下降, 脂肪含量下降说明豌豆蚜长距离迁飞能力减弱, 糖原含量增加可能将能量更多地分配给生殖, 以确保生殖力最大化。

3.3 两种色型豌豆蚜体内酶活力的变化

植食性昆虫体内的蛋白酶将昆虫从植物中取食的蛋白质消化降解成昆虫生长发育所需的各种氨基酸。某些蛋白酶还同时具有解毒酶的功效, 将昆虫取食过程中摄入的一些具有毒性的蛋白降解, 降低有毒物质对昆虫造成的损伤 (Terra *et al.*, 1996)。脂肪酶在脂质获得、储存和运用中有着重要的作用, 它也是许多昆虫生理进程如繁殖、发育、防御病原体和氧化应激, 信息素信号的基础 (Horne *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2010)。淀粉酶是昆虫体内糖类水解及新陈代谢的重要酶, 催化分解进入体内的淀粉, 为其生存繁殖提供主要能量 (孔玉萍等, 2007), 因此, 昆虫体内消化酶对其生长发育具有重要意义。曾芸芸等 (2012) 研究报道, 高 CO₂ 浓度处理下, 褐飞虱体内脂肪酶活力与对照间无显著变化, 而褐飞虱若虫体内胰蛋白酶活力显著高于对照。本研究结果表明, 试虫体内胰蛋白酶活力在高 CO₂ 浓度下有

显著响应,而高 CO_2 浓度对脂肪酶活力无显著影响。傅群兰(2014)发现小菜蛾 *Plutella xylostella* 体内胰蛋白酶和胃蛋白酶随着浓度 CO_2 升高而降低,而在 $750 \mu\text{L/L}$ CO_2 浓度下小菜蛾淀粉酶和脂肪酶的活性高于 $370 \mu\text{L/L}$ CO_2 浓度下小菜蛾的淀粉酶和脂肪酶活性,但在 $550 \mu\text{L/L}$ CO_2 浓度条件的小菜蛾淀粉酶和脂肪酶活性高于 $750 \mu\text{L/L}$ CO_2 浓度下小菜蛾淀粉酶和脂肪酶活性。本研究结果表明,随着 CO_2 浓度升高,连续 3 代两种色型豌豆蚜体内胃蛋白酶和胰蛋白酶活力下降,而淀粉酶和脂肪酶活力升高。昆虫体内消化酶反映昆虫取食消化寄主的能力,消化酶的变化可能与寄主植物的营养物质含量变化有关,也可能与其生长发育有一定的联系,但其间的联系需要进一步研究。

本研究对连续 3 个世代两种色型豌豆蚜体内生化物质含量进行了测定和分析,结果表明, CO_2 浓度升高对 F_0 代两种色型豌豆蚜体内可溶性糖、糖原、总脂肪和游离脂肪酸含量及 4 种消化酶活力都未产生显著影响,但对 F_1 和 F_2 代影响显著,说明 CO_2 浓度升高使蚕豆叶片中营养物质含量的变化,这种变化影响到以之为食的豌豆蚜是一个长期的、多世代的过程。

参考文献 (References)

- Ainsworth EA, Long SP, 2005. What have we learned from 15 years of free-air CO_2 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO_2 . *New Phytol.*, 165(2): 351–371.
- Bassirirad H, Gniff KL, Reynolds JF, Strain BR, 1997. Changes in root NH_4^+ and NO_3^- absorption rates of loblolly and ponderosa pine in response to CO_2 enrichment. *Plant Soil*, 190(1): 1–9.
- Bottomley PA, Rogers HH, Prior SA, 1993. NMR imaging of root water distribution in intact *Vicia faba* L. plants in elevated atmospheric CO_2 . *Plant Cell Environ.*, 16(3): 335–338.
- Cotrufo MF, Ineson P, Scott A, 1998. Elevated CO_2 reduces the nitrogen concentration of plant tissues. *Global Change Biol.*, 4(1): 43–54.
- Du JL, 2013. Study on the Changes Mechanism of Quantity of Population of Two Color Morphs Pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). PhD Dissertation, Gansu Agricultural University, Lanzhou. [杜军利, 2013. 两种色型豌豆蚜种群数量变化机制研究. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文]
- Du JL, Wu DG, Lv N, Liu CZ, 2015. Population parameters of two pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) color morphs at different temperatures. *Acta Prataculturae Sinica*, 24(11): 91–99. [杜军利, 武德功, 吕宁, 刘长仲, 2015. 不同温度条件下两种色型豌豆蚜的种群参数. 草业学报, 24(11): 91–99]
- Du JL, Wu DG, Zhang TW, Qian XJ, Liu CZ, 2012. Effects of UV-B radiation on biological characteristics of different color pea aphid morphs (*Acyrtosiphon pisum*). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 20(12): 1626–1630. [杜军利, 武德功, 张廷伟, 钱秀娟, 刘长仲, 2012. 紫外线(UV-B)辐射对不同色型豌豆蚜生物学特性的影响. 中国生态农业学报, 20(12): 1626–1630]
- Fang JY, Zhuang YH, 2000. Global Ecology: Climate Change and Ecological Response. Higher Education Press, Beijing. [方精云, 庄亚辉, 2000. 全球生态学: 气候变化与生态响应. 北京: 高等教育出版社]
- Fu QL, 2014. The Response of Diamondback Moth and Cabbage to Different Concentrations of CO_2 . MSc Thesis, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou. [傅群兰, 2014. 小菜蛾及其寄主甘蓝对不同浓度 CO_2 的响应. 福州: 福建农林大学硕士学位论文]
- Guo JY, Wu G, Wan FH, 2010. Activities of digestive and detoxification enzymes in multiple generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), in response to transgenic Bt cotton. *J. Pest Sci.*, 83(4): 453–460.
- Han XN, Wang XQ, Zhao LP, Liu CZ, 2012. Effects of host plants on the growth, development and fecundity of *Acyrtosiphon pisum*. *Plant Protection*, 38(1): 40–43. [韩秀楠, 王小强, 赵林平, 刘长仲, 2012. 不同寄主植物对豌豆蚜生长发育和繁殖的影响. 植物保护, 38(1): 40–43]
- Horne I, Haritos VS, Oakeshott JG, 2009. Comparative and functional genomics of lipases in holometabolous insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39(8): 547–567.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2007. Climate Change 2007: the physical science basis. Summary for policy makers. Report of Working Group I of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Available: <http://www.ipcc.ch/pub/spm18-02.pdf>.
- Karoew DN, 2007. Are legume-feeding herbivores buffered against direct effects of elevated carbon dioxide on host plants? A test with the sulfur butterfly, *Colias philodice*. *Global Change Biol.*, 13(10): 2045–2051.
- Kong YP, Huang QC, Liu MH, Feng J, Liu Y, 2007. Parametric optimization on the sensitive determination of midgut α -amylase in larvae of *Mythimna separata* Walker. *Acta Entomologica Sinica*, 50(10): 981–988. [孔玉萍, 黄青春, 刘曼慧, 丰俊, 刘扬, 2007. 粘虫中肠 α -淀粉酶活性测定方法的参数优化. 昆虫学报, 50(10): 981–988]
- Li HM, 2002. Studies on the Characters of Physiology and Biochemistry about Wheat Aphid Migration. MSc Thesis, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. [李红梅, 2002. 麦蚜迁飞的生理生化特性研究. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文]
- Li JB, Fang LP, Lü ZZ, Zhang Z, 2008. Relationships between the cotton resistance to the cotton aphid (*Aphis gossypii*) and the content of soluble sugars. *Plant Protection*, 34(2): 26–30. [李进步, 方丽平, 吕昭智, 张铮, 2008. 棉花抗蚜性与可溶性糖含量的关系. 植物保护, 34(2): 26–30]
- Luo JY, Cui JY, Wang CY, Xin HJ, Zhang S, Lv LM, 2011. Relationship between the contents of protein, soluble sugar and anthocyanidins in cotton leaf and their resistance to *Apolygus lucorum*

- Meyer-Dür. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 39(8): 75–80, 89. [雒珺瑜, 崔金杰, 王春义, 辛惠江, 张帅, 吕丽敏, 2011. 棉花叶片蛋白质、可溶性糖和花青素含量及其与绿盲蝽抗性的关系. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 39(8): 75–80, 89]
- Lü N, 2015. Studies on the Intracellular Bacterial Symbionts of Two Color Morphs of *Acyrtosiphon pisum* Harris. MSc Thesis, Gansu Agricultural University, Lanzhou. [吕宁, 2015. 两种色型豌豆蚜胞内共生菌研究. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文]
- Lü N, Liu CZ, 2014. Effect of different antibiotics on the biological characteristics of pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 22(2): 208–216. [吕宁, 刘长仲, 2014. 不同抗生素对豌豆蚜生物学特性的影响. 中国农业生态学报, 22(2): 208–216]
- Ma YL, Liu CZ, 2016. Effect of photoperiod on population parameters of two color morphs of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Acta Ecologica Sinica*, 36(14): 4548–4555. [马亚玲, 刘长仲, 2016. 两种色型光周期对两种色型豌豆蚜种群参数的影响. 生态学报, 36(14): 4548–4555]
- Peñuelas J, Castells E, Joffre R, Tognetti R, 2002. Carbon-based secondary and structural compounds in Mediterranean shrubs growing near a natural CO₂ spring. *Global Change Biol.*, 8(3): 281–288.
- Qian L, Jiang XC, Liu JY, Luo LF, Gui FR, 2015. Effect of elevated CO₂ concentration on development of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) and nutrients of their host plant, *Phaseolus vulgaris*. *Chinese Journal of Ecology*, 34(6): 1553–1558. [钱蕾, 蒋兴川, 刘建业, 罗丽芬, 桂富荣, 2015. 大气 CO₂ 浓度升高对西花蓟马生长发育及其寄主四季豆营养成分的影响. 生态学杂志, 34(6): 1553–1558]
- Ren HX, Chen X, Wu DX, 2001. Effects of elevated CO₂ on photosynthesis and antioxidative ability of broad bean plants grown under drought condition. *Acta Agronomica Sinica*, 27(6): 729–736. [任红旭, 陈雄, 吴冬秀, 2001. CO₂ 浓度升高对干旱胁迫下蚕豆光合作用和抗氧化能力的影响. 作物学报, 27(6): 729–736]
- Rogers A, Gibon Y, Stitt M, Morgan PB, Bernacchi CJ, 2006. Increased C availability at elevated carbon dioxide concentration improves N assimilation in a legume. *Plant Cell Environ.*, 29(8): 1651–1658.
- Sun YC, Feng L, Gao F, Ge F, 2011. Effects of elevated CO₂ and plant genotype on interactions among cotton, aphids, and parasitoids. *Insect Sci.*, 18(4): 451–461.
- Sun YC, Jing BB, Ge F, 2009. Response of amino acid changes in *Aphis gossypii* (Glover) to elevated CO₂ levels. *J. Appl. Entomol.*, 133(3): 189–197.
- Taub DR, Miller B, Allen H, 2008. Effects of elevated CO₂ on the protein concentration of food crops: a meta-analysis. *Global Change Biol.*, 14(3): 565–575.
- Terra WR, Ferreira C, Jordao BP, 1996. Digestive enzymes. In: Lehane MJ, Billingsley PF eds. *Biology of the Insect Midgut*. Chapman and Hall, London. 153–194.
- Wang XQ, Han XN, Cao XY, Zhang TW, Liu CZ, 2013. Effects of different garden pea cultivars on population parameters of green morph of pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 21(8): 1004–1008. [王小强, 韩秀楠, 曹馨月, 张廷伟, 刘长仲, 2013. 豌豆品种对绿色型豌豆蚜种群参数的影响. 中国生态农业学报, 21(8): 1004–1008]
- Wang ZS, Ouyang YC, 1995. Carbohydrates mobilization and utilization during initial flight period in the moths *Mythimna separata* (Walker). *Acta Entomologica Sinica*, 38(2): 146–151. [王宗舜, 欧阳迎春, 1995. 东方粘虫飞行初期糖类的动用和消耗. 昆虫学报, 38(2): 146–151]
- Wu G, Chen FJ, Ge F, 2006. Response of multiple generations of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* Hübner, feeding on spring wheat, to elevated CO₂. *J. Appl. Entomol.*, 130(1): 2–9.
- Wu G, Chen FJ, Ge F, 2006. Direct effects of elevated CO₂ on growth, development and reproduction of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* Hübner. *Acta Ecologica Sinica*, 26(6): 1731–1738. [吴刚, 陈法军, 戈峰, 2006. CO₂ 浓度升高对棉铃虫生长发育和繁殖的直接影响. 生态学报, 26(6): 1731–1738]
- Wu G, Chen FJ, Ge F, Sun YC, 2007. Effects of elevated CO₂ on the growth and foliar chemistry of transgenic Bt cotton. *J. Integr. Plant Biol.*, 49(9): 1361–1369.
- Xu ZZ, Zhou GS, Wang YH, 2005. The response of grassland ecosystem to climate change and elevated CO₂ concentration. *Journal of Applied Meteorological Science*, 16(3): 385–395. [许振柱, 周广胜, 王玉辉, 2005. 草业生态系统对气候变化和 CO₂ 浓度升高的响应. 应用气象学报, 16(3): 385–395]
- Yin J, Sun Y, Wu G, Ge F, 2010. Effects of elevated CO₂ associated with maize, a C₄ plant, on multiple generations of cotton bollworms *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomol. Exp. Appl.*, 136(1): 12–20.
- Yuan WN, 2016. Research on the Effects of Ultraviolet-B Stress on Pea Aphid (*Acyrtosiphon pisum*). MSc Thesis, Gansu Agricultural University, Lanzhou. [袁卫宁, 2016. 紫外胁迫对豌豆蚜影响的研究. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文]
- Zeng YY, 2013. Effect of Elevated CO₂ on the Biochemical Substances of Rice Plant and on the Physiological Metabolism of *Nilaparvata lugens*. MSc Thesis, Huazhong Agricultural University, Wuhan. [曾芸芸, 2013. 高 CO₂ 浓度对水稻生化物质和褐飞虱生理代谢的影响. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文]
- Zeng YY, Huang WK, Su L, Wu G, Zhuang J, Zhao WY, Hua HX, Li JS, Xiao NW, Xiong YF, 2012. Effect of elevated CO₂ on the nutrients and activity of enzyme of rice plant and *Nilaparvata lugens*. *Scientia Sinica Vitae*, 42(9): 739–745. [曾芸芸, 黄文坤, 苏丽, 吴刚, 庄静, 赵万云, 华红霞, 李俊生, 肖能文, 熊燕飞, 2012. 高 CO₂ 浓度对水稻褐飞虱体内营养物质及酶活性的影响. 中国科学: 生命科学, 42(9): 739–745]

(责任编辑: 赵利辉)